

(4)

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 01-096194
(43)Date of publication of application : 14.04.1989

(51)Int.CI. C07K 1/08
C07K 5/06

(21)Application number : 62-253383 (71)Applicant : AJINOMOTO CO INC
(22)Date of filing : 07.10.1987 (72)Inventor : KATO TOSHIHISA
KURAUCHI MASAHIKO

(54) PRODUCTION OF GLUTAMINE DERIVATIVE

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain the titled compound in good yield and high purity, by using unprotected glutamine as glutamine and carrying out a reaction in the presence of a weak base in subjecting C end of an amino acid to peptide binding with N end of the glutamine by an active esterification method.

CONSTITUTION: When C end of amino acid or peptide is subjected to peptide binding with N end of glutamine by an active esterification method, unprotected glutamine is used as glutamine and simultaneously the reaction is carried out in the presence of a weak base such as sodium carbonate to provide the aimed compound. Further more, an amino acid or peptide which is N-protected with a carbobenzoxy group is preferably used as the above-mentioned amino acid or peptide. The above-mentioned reaction is preferably carried out using THF, etc., as a solvent as well as using dicyclohexylcarbodiimide as a condensing agent.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

⑪ 公開特許公報 (A)

平1-96194

⑤Int.Cl.⁴C 07 K 1/08
5/06

識別記号

庁内整理番号

8318-4H
Z-8318-4H

⑥公開 平成1年(1989)4月14日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)

⑦発明の名称 グルタミン誘導体の製造方法

⑧特 願 昭62-253383

⑨出 願 昭62(1987)10月7日

⑩発明者 加藤 敏久 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内

⑪発明者 倉内 雅彦 神奈川県川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内

⑫出願人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

明細書

1. 発明の名称

グルタミン誘導体の製造方法

2. 特許請求の範囲

1. アミノ酸又はペプチドのC端と、グルタミンのN端とで活性エステル化法によりペプチド結合せしめてグルタミン誘導体を製造するに際し、グルタミンが無保護グルタミンであり、ペプチド結合反応が弱塩基の存在下で行われることを特徴とするグルタミン誘導体の製造方法。

2. アミノ酸がグリシン又はアラニンである特許請求の範囲第1項記載の方法。

3. アミノ酸又はペプチドがN保護されたものである特許請求の範囲第1項記載の方法。

4. N保護基がカルボベンゾキシ基である特許請求の範囲第3項記載の方法。

5. 弱塩基が炭酸塩又は炭酸水素塩である特許請求の範囲第1項記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明はグルタミンを含むペプチドの合成に関するものである。より詳細には本発明はN-保護アミノ酸又はペプチドをジシクロヘキシルカルボジイミドなどの縮合剤を用いてN-ヒドロキシスクシンイミド等と反応させ活性エステルとしこれを無保護グルタミンとペプチド結合反応させこれを脱保護することによりグルタミン含有ペプチドを得る方法に関するものである。

(従来の技術)

グルタミン含有ペプチドは近年無血清培地の成分として極めて有用であり、また輸液の成分としての利用も進められておりその実用的な重要性は明白である。

従来、グルタミンを含有するペプチドの製造方法においてはそのアミド基の不安定性によりいろいろな副反応を起こすことが知られており (J.Rudinger, Angew. Chem., 71, 742 (1959)) 合成することが困難であった。以下にグルタミンを含有するペプチドの合成文献をあげる。

① Y. Shimonishi, S. Sakakibara, S. Akabori,

Bull. Chem. Soc. Jap. 35, 1966~1970

② Y. Shimomishi, Bull. Chem. Soc. Jap. 37, 200~203

③ S. Akabori, S. Sakakibara, Y. Shimomishi, Bull. Chem. Soc. Jap. 34, 739

しかしいずれの場合にも工業的製法としてはかなりの困難性を伴う。またさらには最終段階で得た生成物に不純物が混入しておりこれを精製することが難しい。

さらに、収率の点からもアラニルグルタミンの場合、①の方法では5%，③では28%程度の収率しか期待できず、工業的観点からは決して満足のいく方法ではない。

(発明が解決しようとする問題点)

工業的に有利な、グルタミン誘導体の製造方法が望まれている。

(問題を解決するための手段)

本発明者らは、アミノ酸又はペプチドのC端とグルタミンのN端とで活性エステル化法によりペプチド結合せしめてグルタミン誘導体を製造する

クシンイミドとカルボジイミド類、望ましくはジクロヘキシルカルボジイミドと反応させ活性エステルとした後、無保護L-グルタミンと反応させZ-Gly-L-Glnを得る。反応は通常30~200℃で行い反応時間は1~30時間であり、望ましくは5~10時間である。得られたZ-Gly-L-Glnはアルコール類望ましくはメタノール、エタノールと水の混合溶媒中でペラジウム炭素を触媒として水素で脱保護する。反応は通常10~40℃望ましくは15~30℃、反応時間は1~5時間望ましくは1~3時間である。このペラジウム炭素を触媒として用いて水素で脱保護する方法は剛反応が起りにくく、グルタミンを含有するペプチド類の製造においてもすぐれた方法である。

反応の進行はTLC(薄層クロマトグラフィー)により追跡することができる。終了を確認した後触媒を済過し、反応液にアルコール類望ましくはイソプロパノール、エタノールを加えることにより容易に高純度の目的物を晶析することができる。さらに収率の点からも例えばアラニルグルタミン

に際し、グルタミンが無保護グルタミンであり、ペプチド結合反応を弱塩基の存在下で行なうことによりグルタミン誘導体が収率良くかつ高純度で得られることを見い出したこの知見に基づいて本発明を完成するに至った。

アミノ酸又はペプチドはN保護されたものが望ましく、保護基はカルボベンゾキシ基、第三アチルオキシカルボニル基、ベンジル基等通常用いられるものであればその種類を問わないが、晶析が容易である点から、カルボベンゾキシ基が最も好ましい。また、弱塩基としては炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウムなどの炭酸塩、炭酸水素塩を用いる。尚、本発明に用いるアミノ酸はD-体、L-体およびDL-体のいずれであってもよい。

本発明の方法によれば、例えばGly-L-Glnを製造する場合、Z-Glyを水溶性の溶媒、たとえばジオキサン、テトラヒドロフラン、アセトン、アセトニトリル、ジメチルホルムアミド中で望ましくはジオキサン、テトラヒドロフラン中で、N-ヒドロキシベンズトリアゾール、N-ヒドロキシス

の場合、従来法では高々30%程度であったのに対し、本方法では58%の収率が得られ、純度ならびに収率の点から言っても、従来法にない秀れた製造方法である。

本明細書において使用される略称、略号の意味は次の通りである。

Ala アラニン

Gln グルタミン

Gly グリシン

Z カルボベンゾキシカルボニル基

以下に実施例を挙げて本発明を更に詳しく説明する。

実施例 1

L-アラニン-L-グルタミンの合成

(a) N-カルボベンゾキシ-L-アラニル-L-グルタミン (Z-L-Ala-L-Gln)

300mLの丸底フラスコにZ-L-Ala 1.0g (4.4.8ミリモル)とN-ヒドロスクシンイミド5.2g (45.2ミリモル)を仕込みジオキサン100mLで溶解した。溶液の温度を25~20℃

に保ち、ジシクロヘキシルカルボジイミド 9.2 g (44.7ミリモル) のジオキサン 40 ml 溶液を滴下した。5時間反応させた後生成したジシクロヘキシル炭素を沪別した。一方、L-Gln 7.2 g (5.0ミリモル) を 10 % 塩酸水素ナトリウム水溶液 70 ml に溶解し 15~10℃ に冷却し、この溶液に先のジオキサン溶液を滴下し 5時間反応させた。反応終了後 1N 塩酸で pH を 6.8 に調整しジオキサンを留去した。不溶物を沪過した後 1N HCl で pH を 3~3.5 に調整後 1~2 分後に結晶が析出した。これを沪取した後、水洗ついで減圧乾燥すると Z-L-Ala-L-Gln 7 g (2.0ミリモル) が得られた。さらに先の母液を 1N 塩酸で pH 2.0 に調整し晶析することにより 5 g の Z-L-Ala-L-Gln を得た。

(b) L-アラニル-L-グルタミン (L-Ala-L-Gln)
200 ml の 3つロフラスコに Z-L-Ala-L-Gln
5.0 g (14.2ミリモル) を仕込み 70 % メタノール水 (メタノール:水 = 7:3) 100 ml に溶解しマグネットスターでかくはんした。

300 ml の丸底フラスコに Z-Gly 1.0 g (47.8ミリモル) と N-ヒドロキシスクシンイミド 5.5 g (47.8ミリモル) を仕込みジオキサン 100 ml で溶解した。溶液の温度を 25~20℃ に保ち、ジシクロヘキシルカルボジイミド 9.9 g (48.0ミリモル) のジオキサン溶液 40 ml を滴下した。

4時間後生成したジシクロヘキシル炭素を沪別した。一方 L-Gln 7.2 g (5.0ミリモル) を 10 % 塩酸水素ナトリウム水溶液 70 ml に溶解し 15℃ に冷却した。これに先のジオキサン溶液を滴下し 15℃ で 5時間反応させた。反応終了後 1N 塩酸で pH を 7.0 に調整しジオキサンを減圧留去した。不溶物を沪過した後 1N 塩酸で pH を 2.0 に調整し一夜冷蔵庫に放置した。析出した結晶を沪取した後水洗ついで減圧乾燥すると Z-Gly-L-Gln 1.3.2 g (39.2ミリモル) が得られた。

(b) グリシル-L-グルタミン (Gly-L-Gln)
200 ml の 3つロフラスコに Z-Gly-L-Gln

フラスコ内を窒素置換した後 2重量バラジウム炭素 0.8 g を加え水素気流中で脱保護を行った。2時間後 TLC (薄層クロマトグラフィー) で反応終了を確認しバラジウム炭素を沪過した後、沪液を 20 ml まで減圧濃縮する。これにイソプロピルアルコール 40 ml を加え、30分ほど搅拌を続けると結晶が析出した。これを沪取した後、イソプロピルアルコールで洗浄ついで減圧乾燥すると L-Ala-L-Gln 2.8 g (12.9ミリモル) (90%) が得られた。

mp. 205~207℃ (分解)

(α)_D²⁰ +10.5° (C=2.0 H₂O)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr cm}^{-1}}$ 3400, 3350, 1640, 1630,
1600, 1520, 1380,

1150

Rf 0.20 (シリカゲル、フェノール:水 = 3:1)

実施例 2

グリシル-L-グルタミンの合成

(a) N-カルボベンゾキシーグリシル-L-グルタミン (Z-Gly-L-Gln)

1.0 g (29.7ミリモル) を仕込み 70 % メタノール水 100 ml を加えてスターで搅拌した。フラスコ内を窒素置換した後 2重量バラジウム炭素 1.5 g を加え水素気流中で脱保護を行った。反応の当初はスラリー状であるが反応が進行するに従って原料の Z-Gly-L-Gln は溶解した。3時間後 TLC (薄層クロマトグラフィー) で反応終了を確認した後バラジウム炭素を沪過した。沪液を 30 ml まで減圧濃縮した後、メタノール 40 ml を加え、5℃ で一夜晶析した。これを沪取した後、少量の冷メタノールで洗浄ついで減圧乾燥すると Gly-L-Gln·H₂O 4.9 g (22.2ミリモル) (75%) が得られた。

mp. 198℃ (分解)

(α)_D²⁰ -1.6° (C=4.0 H₂O)

IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr cm}^{-1}}$ 3520, 3400, 3250,
3100, 1690, 1570,
1410, 1340, 1280

Rf 0.13 (シリカゲル、フェノール:水 = 3:1)

特許出願人 味の素株式会社

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-234715

(43)Date of publication of application : 23.08.1994

(51)Int.Cl.

C07C237/22
C07C309/70
C07C309/72

(21)Application number : 05-266972

(71)Applicant : KYOWA HAKKO KOGYO CO LTD

(22)Date of filing : 26.10.1993

(72)Inventor : INOUE KUNIMI

YAMADA YOSHIYUKI
AMATSU KAZUMI
MIMURA YUKITERU
NAKAGUCHI YASUNORI
NIIMURA HIROYUKI
ONO YASUYUKI
OSAWA YUTAKA
MIZUTAKI SHIYOUICHI
KASAI MASAJI
TOMIOKA SHINJI

(30)Priority

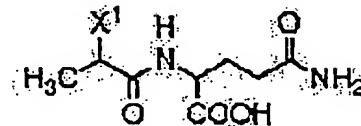
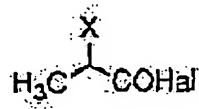
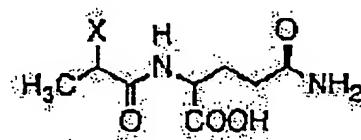
Priority number : 04291139 Priority date : 29.10.1992 Priority country : JP

(54) PRODUCTION OF ALANYLGLUTAMINE

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain alanylglutamine in high purity at a low cost by reacting a partially new N-(2-substituted)-propionylglutamine derivative with ammonia at a prescribed temperature or below.

CONSTITUTION: A partially new N-(2-substituted)-propionylglutamine derivative expressed by formula I [X is halogen, alkylsulfonyloxy or (substituted) arylsulfonyloxy] [e.g. new N-(2-D-chloro)propionyl-L-glutamine] is made to react with ammonia at $\leq 60^\circ\text{ C}$ to afford the objective alanylglutamine. A compound expressed by formula III (X_1 is Cl, I or X other than halogen) in the compound expressed by formula I is new. This compound expressed by formula I is obtained by reacting a 2-substituted-propionyl halide expressed by formula II (Hal is halogen) with an alkaline aqueous solution of glutamine in the presence of a water-immiscible organic solvent and recovering the resultant compound expressed by formula I from the prepared reactional solution. L-Alanyl-L-glutamine is useful as a pharmaceutical bulk, etc., for infusion.



(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-234715

(43)公開日 平成6年(1994)8月23日

(51)Int.Cl.⁵
C 07 C 237/22
309/70
309/72

識別記号
7106-4H
7419-4H
7419-4H

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数3 O L (全6頁)

(21)出願番号

特願平5-266972

(22)出願日

平成5年(1993)10月26日

(31)優先権主張番号 特願平4-291139

(32)優先日 平4(1992)10月29日

(33)優先権主張国 日本 (JP)

(71)出願人 000001029

協和醸酵工業株式会社
東京都千代田区大手町1丁目6番1号

(72)発明者 井上 国見

大阪府堺市今池町1-2-3

(72)発明者 山田 義之

大阪府堺市草尾420-3

(72)発明者 天津 和美

大阪府堺市新在家町西2-2-9

(72)発明者 三村 幸輝

静岡県駿東郡長泉町東野692-304

(72)発明者 中口 康範

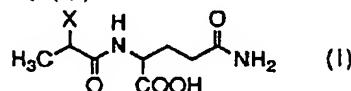
大阪府堺市今池町1-2-3

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アラニルグルタミンの製造法

(57)【要約】

【構成】 式(I)



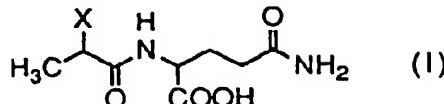
[式中、Xはハロゲン原子、アルキルスルホニルオキシまたは置換もしくは非置換のアリールスルホニルオキシ基を表す]で表されるN-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体を、アンモニアと60°C以下で反応せしめることを特徴とするアラニルグルタミンの製造法。

【効果】 本発明によりL-アラニル-L-グルタミンが効率よく安価に製造される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(I)

【化1】



〔式中、Xはハロゲン原子、アルキルスルホニルオキシまたは置換もしくは非置換のアリールスルホニルオキシ基を表す〕で表されるN-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体を、アンモニアと60℃以下で反応せしめることを特徴とするアラニルグルタミンの製造法。

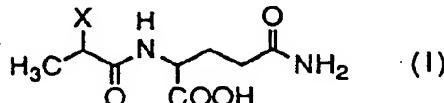
【請求項2】 式(II)

【化2】



〔式中、Xは前記と同義であり、Halはハロゲン原子を表す〕で表される2-置換-プロピオニルハライドをグルタミンのアルカリ水溶液と、水と混和しない有機溶媒存在下に反応させ、得られた反応液から式(I)

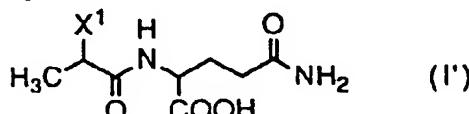
【化3】



〔式中、Xは前記と同義である〕で表されるN-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体を回収することを特徴とするN-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体の製造法。

【請求項3】 式(I')

【化4】



〔式中、X'は塩素原子、ヨウ素原子、アルキルスルホニルオキシまたは置換もしくは非置換のアリールスルホニルオキシ基を表す〕で表されるN-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体またはその塩。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明はアラニルグルタミンの製造法およびその中間体であるN-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体の製造法並びに該方法により製造される新規N-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体に関する。L-アラニル-L-グルタミンは、L-グルタミンに比べて安定であり、且つ水に対する溶解度が高いことから、L-グルタミンの安定誘導体として輸液用原末等に用いられる。

【0002】

【従来の技術】アラニルグルタミンの製造法としては、①保護基を用いる方法、例えば、N-ベンジルオキシカルボニルアラニン(以下、Z-アラニンと称する)と保護グルタミンをジシクロヘキシリカルボジイミド(DCC)で結合し、脱保護して合成する方法 [Bull. Chem. Soc. Jpn., 34, 739 (1961)、Bull. Chem. Soc. Jpn., 35, 1966 (1962)]、Z-アラニンと保護グルタミン酸-γ-メチルエステルをDCCで結合し、脱保護後、アンモニアと反応させて合成する方法 [Bull. Chem. Soc. Jpn., 37, 200 (1964)]、Z-アラニンの活性エステルと無保護のグルタミンを反応させ、脱保護して合成する方法〔欧州特許第311057号〕等、②N-カルボキシ無水物を経由する方法〔ドイツ特許第3206784号〕、③2-ブロモプロピオニルクロリドを原料とし、2-ブロモプロピオニルグルタミンを中間体として合成する方法 [Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 105, 58 (1919)] 等が知られている。

【0003】①の保護基を用いる方法は脱保護が必要であり、操作が煩雑で安価にアラニルグルタミンを製造することができない。②の方法は、アラニンのN-カルボキシ無水物を用いる方法で保護基を必要としないが、トリペプチド等の副生物が多く生成するため收率が低く、また精製が困難である。③の方法は、2-ブロモプロピオニルクロリドとグルタミンとの反応において、水との反応性の高い酸クロリドをグルタミンの水溶液に添加しているため、目的の反応以外に酸クロリドの加水分解反応が進行し、副生物が生成して收率が低い。また、当該方法においては、生成した2-ブロモプロピオニルグルタミンを有機溶媒を用いた抽出法で精製しているため收率が低く、かつ光学純度も低い。さらに、当該方法においては、2-ブロモプロピオニルグルタミンのアンモニリシスを高温で行っているため、副生成物が多くかつ生成するアラニルグルタミンの光学純度も低下する傾向がある。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、工業上、安価かつ高純度なアラニルグルタミンの製造法およびその中間体であるN-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体の製造法並びに該方法により製造される新規N-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体を提供することにある。

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明は、式(II)

【0006】

【化5】

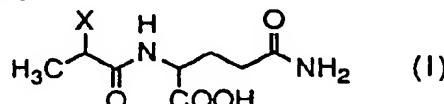


【0007】〔式中、Xはハロゲン原子、アルキルスル

ホニルオキシまたは置換もしくは非置換のアリールスルホニルオキシ基を表し、H a 1 はハロゲン原子を表す]で表される2-置換-プロピオニルハライド〔以下、化合物(I I)と称する〕とグルタミンのアルカリ水溶液とを、水と混和しない有機溶媒存在下に反応させることを特徴とする式(I)

【0008】

【化6】



【0009】〔式中、Xは前記と同義である〕で表されるN-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体〔以下、化合物(I)と称する〕の製造法並びに化合物(I)を60℃以下でアンモニアと反応せしめること特徴とするアラニルグルタミンの製造法に関する。式

(I)および式(I I)の定義中、アルキルスルホニルオキシ基のアルキル部分としては、炭素数1~6の直鎖もしくは分岐状アルキル基、例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、ヘキシル等が含まれ、アリールスルホニルオキシのアリール部分としては、フェニル、ナフチル等が、置換アリールとしては、トリル等がそれぞれ含まれる。また、ハロゲン原子としては、塩素、臭素、ヨウ素の各原子が含まれる。

【0010】本発明の化合物(I)の製造法において、水と混和しない有機溶媒としては、エーテル、トルエン、クロロホルム、塩化メチレン、ジクロロエタン、酢酸エチル等が単独もしくは混合して用いられるが、トルエン、クロロホルム、塩化メチレンが好適に用いられる。用いられる有機溶媒の量は、グルタミンのアルカリ水溶液に対して、0.1~5倍量、好ましくは0.3~1倍量用いられる。グルタミンのアルカリ水溶液としては反応を阻害しないものであればとくに制限はないが、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化リチウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム等の無機アルカリ水溶液、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ビリジン等の有機アルカリ水溶液があげられるが、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、トリエチルアミンが好適に用いられる。グルタミンは、化合物(I I)に対して、0.5~2.0当量用いられるが、当量用いるのが好ましい。アルカリ水溶液に含まれるグルタミンの量としては、0.01~3M、好

10

20

30

40

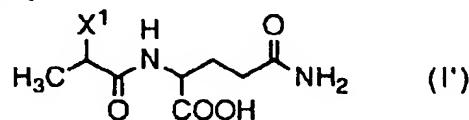
ましくは、0.1~1Mである。反応は、-5~40℃、好ましくは、0~10℃で行われ、0.1~5時間、好ましくは、0.5~2時間で終了する。反応中、アルカリ水溶液のpHは7~11、好ましくは9~10.5である。反応の進行に伴い塩酸が生成するため、反応液のpHは低下する。従って、反応中、反応液に塩基を加えることにより、反応液のpHを上記の範囲に設定することが好ましい。用いられる塩基は、反応を阻害しない限りとくに制限はなく、例えば、水酸化ナトリウム等の無機塩基、トリエチルアミン等の有機塩基等が用いられる。

【0011】上記反応で使用した有機溶媒を分液等により除去後、アルカリ水溶液に塩を加え、塩酸、硫酸等の強酸でpH0.1~4、好ましくはpH0.5~2.5に調整し、塩析することにより化合物(I)の結晶を收率よく得ることができる。用いられる塩としては、例えば塩化ナトリウム、塩化カリウム、硫酸ナトリウム等があげられるが、塩化ナトリウムが好適に用いられる。添加する塩の量はとくに制限はないが、アルカリ水溶液がその塩の飽和溶液になる量が好ましい。

【0012】本発明の化合物(I)のうち、下記式(I')

【0013】

【化7】

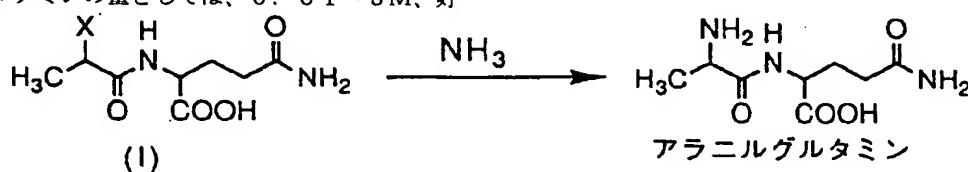


【0014】〔式中、X'は塩素原子、ヨウ素原子、アルキルスルホニルオキシまたは置換もしくは非置換のアリールスルホニルオキシ基を表す〕で示される化合物〔以下、化合物(I')と称する〕およびその塩は、新規化合物である。化合物(I')の塩としては、化合物(I')のナトリウム、カリウム等のアルカリ金属塩、アンモニウム、トリメチルアンモニウム、トリエチルアンモニウム等のアンモニウム塩、ピリジニウム塩等があげられる。

【0015】本発明のアラニルグルタミンの製造法において、化合物(I)またはその塩を60℃以下の温度でアンモニアと、溶媒中で反応させることにより、收率よくアラニルグルタミンを得ることができる。

【0016】

【化8】



【0017】〔式中、Xは前記と同義である。〕

【0018】上記反応で使用される溶媒としては、メタノール、エタノール、プロパノール等のアルコール類もしくは水または水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ水溶液があげられるが、水が好適に用いられる。酢酸アンモニウム、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、臭化アンモニウム、炭酸アンモニウム等のアンモニウム塩を添加することにより反応性が向上することがある。反応温度は通常0～60℃である。反応は常圧または加圧下に1～100時間好ましくは4～50時間で終了する。アンモニアは化合物(I)に対し1～200当量、好ましくは、10～50当量用いられる。反応時の化合物(I)の濃度は0.01～2M、好ましくは0.1～0.6Mである。反応の進行は高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で追跡する。反応終了を確認後、減圧濃縮等により、過剰のアンモニアと水を除きアルコール類、好ましくはメタノール、エタノール、2-プロパノールを加えることにより高純度のアラニルグルタミンを収率よく得ることができる。化合物(I)においてXが臭素原子である場合は、反応を20～30℃で行うことにより、高生成率でかつラセミ化をおこすことなく、有利に高純度のアラニルグルタミンを収率よく得ることができる。

【0019】光学活性なアラニルグルタミンを所望の場合は、光学活性な化合物(I-I)およびグルタミンを使用して得ることもできるが、光学不活性な化合物(I-I)および光学活性なグルタミンを用い、化合物(I)あるいはアラニルグルタミンのジアステレオマー混合物を得、これを常法に従い、分離、精製すればよい。以下に、本発明の実施例を示す。

【0020】

【実施例】

実施例1 N-(2-D-クロロ)プロピオニル-L-グルタミンの合成

水300mlとトルエン150mlに室温下、L-グルタミン4.8. 2g (0.33モル)を加え0～5℃に冷却し、5規定水酸化ナトリウム6.6ml (0.33モル)を添加しL-グルタミンを溶解させた。この溶液に2-D-クロロプロピオニルクロリド4.2. 0g (0.33モル、光学純度；92. 8%ee)を含むトルエン9.0mlと5規定水酸化ナトリウム7.4mlを0～5℃で、pH1.0に保ちながら2時間かけて加えた。0～5℃で1時間搅拌後、トルエンを分液して除去し、室温下、水層に塩化ナトリウム6.0gを加えた。この溶液に室温下、濃塩酸2.2mlを加えてpH2.5に調整後、種晶し30分間搅拌した。さらに濃塩酸8mlを加えてpH1.0に調整し、室温下1時間晶析した。得られた結晶を濾取し、減圧下乾燥することにより、N-(2-D-クロロ)プロピオニル-L-グルタミンを71.6g [收率；85.3% (純度；92.9%)、光学純

度；99.4%de、融点；148℃(分解)] 得た。

【0021】N-(2-D-クロロ)プロピオニル-L-グルタミンの理化学的性質は以下の通りである。

¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) : 1.54 (3H, d, J=6.6Hz), 1.70 ~2.10 (2H, m), 2.14 (2H, t, J=7.1Hz), 4.13~4.23 (1H, m), 4.59 (1H, q, J=6.7Hz), 6.82 (1H, s), 7.37 (1H, s), 8.60 (1H, d, J=7.7Hz)

¹³C-NMR(75.5MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) : 21.7, 26.6, 31.2, 51.9, 54.1, 168.9, 172.8, 173.5

10 MS(CI, m/e) : 237(M⁺+1)

IR(KBr, cm⁻¹) : 1738, 1662

【0022】実施例2 N-[2-D-(p-トルエンスルホニルオキシ)]プロピオニル-L-グルタミンの合成

水300mlとトルエン150mlに室温下、L-グルタミン4.7. 4g (0.32モル)を加え0～5℃に冷却し、5規定水酸化ナトリウム6.6ml (0.32モル)を添加しL-グルタミンを溶解させた。この溶液に2-D-(p-トルエンスルホニルオキシ)プロピオニルクロリド9.1. 0g (0.32モル)を含むトルエン9.0mlと5規定水酸化ナトリウム7.5mlを0～5℃で、pH1.0に保ちながら2時間かけて加えた。0～5℃で1時間搅拌後、トルエンを分液して除去し、水層に室温下、塩化ナトリウム5.9gを加えた。この溶液に室温下、濃塩酸2.5mlを加えてpH2.5に調整後、種晶し30分間搅拌した。さらに濃塩酸8mlを加えてpH1.0に調整し、室温下1時間晶析した。得られた結晶を濾取し、減圧下乾燥することにより、N-[2-D-(p-トルエンスルホニルオキシ)]プロピオニル-L-グルタミンを76.9g [收率；63.8%、光学純度；99.6%de、融点；102℃] 得た。N-

20 【2-D-(p-トルエンスルホニルオキシ)]プロピオニル-L-グルタミンの理化学的性質は以下の通りである。

¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ (ppm) : 1.35 (3H, d, J=6.7Hz), 1.72 ~1.98 (2H, m), 2.03 (2H, t, J=6.6Hz), 2.43 (3H, s), 4.07~4.14 (1H, m), 4.90 (1H, q, J=6.7Hz), 6.83 (1H, s), 7.31 (1H, s), 7.48 (2H, d, J=8.1Hz), 7.82 (2H, d, J=8.1Hz), 8.44 (1H, d, J=7.8Hz)

30 ¹³C-NMR(75.5MHz, DMSO-d₆-D₂O) δ (ppm) : 19.8, 22.1, 27.4, 31.9, 52.3, 76.9, 128.6, 131.1, 133.4, 146.4, 169.4, 173.6, 175.2

MS(SIMS, m/e) : 373(M⁺+1)

IR(KBr, cm⁻¹) : 1712, 1675

【0023】実施例3 N-(2-D-メタンスルホニルオキシ)プロピオニル-L-グルタミンの合成

水18.5mlとトルエン9.2mlに室温下、L-グルタミン2.9. 2g (0.20モル)を加え0～5℃に冷却し、5規定水酸化ナトリウム4.0ml (0.20モル)

40 を添加しL-グルタミンを溶解させた。この溶液に2-

D-メタンスルホニルプロピオニルクロリド38.0g(0.20モル)を含むトルエン20mlと5規定水酸化ナトリウム50mlを0~5℃で、pH1.0に保ちながら2時間かけて加えた。0~5℃で1時間搅拌後、トルエンを分液して除去し、室温下、水層に塩化ナトリウム76gを加えた。この溶液に室温下、濃塩酸21mlを加えてpH0.9に調整後、150mlのクロロホルム/2-ブロバノール(1:1)で2回抽出した。有機層を分取し、濃縮乾燥することにより、N-(2-D-メタンスルホニルオキシ)プロピオニル-L-グルタミンを27.2g〔收率; 45.8%、光学純度; 95.8%de〕得た。

【0024】N-(2-D-メタンスルホニルオキシ)プロピオニル-L-グルタミンの理化学的性質は以下の通りである。

¹H-NMR(300MHz, DMSO-d₆) δ(ppm): 1.47(3H, d, J=6.6Hz), 1.77~2.12(2H, m), 2.15(2H, t, J=7.5Hz), 3.23(3H, s), 4.17~4.24(1H, m), 5.07(1H, q, J=6.6Hz), 6.84(1H, s), 7.35(1H, s), 8.60(1H, d, J=7.7Hz)

¹³C-NMR(75.5MHz, DMSO-d₆) δ(ppm): 19.4, 25.6, 31.5, 51.9, 62.6, 75.9, 169.2, 173.2, 174.4

MS(SIMS, m/e): 297(M⁺ +1)

【0025】実施例4 N-(2-D-ブロモ)プロピオニル-L-グルタミンの合成

水300mlとトルエン75mlに室温下、L-グルタミン21.9g(0.15モル)を加え、0~5℃に冷却し、5規定水酸化ナトリウム30ml(0.15モル)を添加し、L-グルタミンを溶解させた。この溶液に2-D-ブロモプロピオニルクロリド25.7g(0.15モル)を含むトルエン30mlを、0~5℃で、5規定水酸化ナトリウム25mlを滴下することにより、pH1.0に保ちつつ2時間かけて加えた。0~5℃で1時間搅拌後、トルエンを分液して除去し、室温下、水層に塩化ナトリウム40gを加えた。この溶液に室温下、濃塩酸15mlを加えてpH1.0に調整し、室温下1時間晶析した。得られた結晶を濾取し、減圧下乾燥することにより、N-(2-D-ブロモ)プロピオニル-L-グルタミンを40.4g(收率; 95.8%、光学純度; 97.9%de、融点; 142℃)得た。

【0026】実施例5 N-(2-D-クロロ)プロピオニル-L-グルタミンを原料としたL-アラニル-L-グルタミンの合成

1リットルのガラスオートクレイブにN-(2-D-クロロ)プロピオニル-L-グルタミン60.0g(純度; 92.9%、0.24モル)と28%アンモニア水600mlを加え室温下溶解させた。この溶液を60℃へ昇温し、内圧約2kg/cm²で8時間反応させた。室温へ冷却後、減圧下濃縮し、得られた残渣に水30mlを加え全量を150gとした。この溶液に室温下、メ

タノール450mlを1時間かけて滴下した。2時間晶析後、析出した結晶を濾取し、減圧下乾燥することによりL-アラニル-L-グルタミンの粗成物を35.4g(收率; 69.0%、光学純度; 97.6%de)得た。

【0027】このL-アラニル-L-グルタミンの粗成物30gを、水50mlに溶解させ、活性炭0.6gを加え、室温下10分間搅拌した。活性炭を濾別し、濾液に30℃でメタノール42mlを加えた後種晶し、2時間晶析した。さらにメタノール138mlを、30℃で1時間かけて添加した後2時間搅拌した。析出した結晶を濾取し、減圧下乾燥することによりL-アラニル-L-グルタミンを26.38g(收率; 88%、光学純度; 99.9%de、融点; 216℃(分解)、比旋光度; [α]_{20D} = -3.49°(c = 10, 1N-HCl))得た。

【0028】実施例5 N-(2-D-ブロモ)プロピオニル-L-グルタミンを原料としたL-アラニル-L-グルタミンの合成

N-(2-D-ブロモ)プロピオニル-L-グルタミン20.0g(0.07モル)に28%アンモニア水300mlを加え室温下溶解させ、室温下20時間反応させた。反応混合物を減圧濃縮し、得られた残渣に水約6mlを加え、全量を40gとした。その溶液に室温下、メタノール126mlを1時間かけて滴下した後、2時間晶析した。得られた結晶を濾取後、減圧下乾燥し、L-アラニル-L-グルタミンの粗成物を12.1g(收率; 78.1%、光学純度; 98.9%de)得た。

【0029】このL-アラニル-L-グルタミンの粗成物11.0gを水18.3mlに溶解させ、活性炭0.22gを加え、室温下10分間搅拌した。活性炭を濾別し、得られた濾液に30℃でメタノール15.4mlを加えた後種晶し、2時間晶析した。さらにメタノール50.6mlを30℃で1時間かけて添加し、2時間搅拌した。得られた結晶を濾取後、減圧下乾燥し、L-アラニル-L-グルタミンを9.84g(收率; 89.5%、光学純度; 99.8%de)得た。

【0030】実施例6 N-[2-D-(p-トルエンスルホニルオキシ)]プロピオニル-L-グルタミンを原料としたL-アラニル-L-グルタミンの合成

N-[2-D-(p-トルエンスルホニルオキシ)]プロピオニル-L-グルタミン30.0g(0.08モル)に28%アンモニア水300mlを加え室温下溶解させ、室温下24時間反応させた。反応混合物を減圧下濃縮し、得られた残渣に水約1mlを加え、全量を50gとした。その溶液に室温下、メタノール200mlを1時間かけて滴下した後、2時間晶析した。得られた結晶を濾取後、減圧下乾燥し、L-アラニル-L-グルタミンの粗成物を8.6g(收率; 49.1%、光学純度; 99.3%de)得た。

【0031】このL-アラニル-L-グルタミンの粗成物8 gを水13. 3mlに溶解させ、活性炭0. 16 gを加え、室温下10分間攪拌した。活性炭を濾別し、得られた濁液に30℃でメタノール1. 2mlを加えた後種晶し、2時間晶析した。さらにメタノール36. 8 mlを30℃で1時間かけて添加し、2時間攪拌した。得られた結晶を濾取後、減圧下乾燥し、L-アラニル-L-グルタミンを7. 41 g（収率；92. 6%、光学純度；99. 9%de）得た。

【0032】実施例7 N-(2-D-メタンスルホニルオキシ)プロピオニル-L-グルタミンを原料にしたL-アラニル-L-グルタミンの合成

N-(2-D-メタンスルホニルオキシ)プロピオニル-L-グルタミン15. 6 g (0. 053モル)に28%アンモニア水156 mlを加え室温下溶解させ、46時間反応させた。反応混合物を減圧下濃縮し、得られた残渣に水約7 mlを加え全量を35 gとした。これにメタノール100 mlを室温下、1時間かけて滴下した後、2時間晶析した。得られた結晶を濾取し、減圧下乾燥しL-アラニル-L-グルタミンの粗成物を5. 78 g（収率；50. 5%、光学純度；96. 4%de）得た。

【0033】このL-アラニル-L-グルタミンの粗成物5. 0 gを水8. 3mlに溶解させ、活性炭0. 1 gを加え、室温下10分間攪拌した。活性炭を濾別し、得られた濁液に30℃でメタノール7. 0 mlを加えた後種晶し、2時間晶析した。さらにメタノール23. 0 mlを30℃で1時間かけて添加し2時間攪拌した。得られた結晶を濾取後、減圧下乾燥し、L-アラニル-L-グルタミンを4. 30 g（収率；86. 0%、光学純度；99. 0%de）得た。

【0034】実施例8 N-(2-D-ブロモ)プロ

ピオニル-L-グルタミンのアミノ化反応

実施例5と同様にN-(2-D-ブロモ)プロピオニル-L-グルタミン300 mg (1. 07ミリモル、光学純度；97. 9%de)に28%アンモニア水3mlを加え室温下溶解させ、室温下20時間反応させた。反応混合物を減圧濃縮しアンモニアを留去し、以下の条件によるHPLCの分析を行い、L-アラニル-L-グルタミン202 mg (収率；87. 1%、光学純度；98. 2%de)の生成を確認した。

【0035】HPLCの条件

カラム； YMC-pack ODS-AQ313

移動相； 0. 01M KH₂PO₄

検出； UV 210 nm

【0036】一方、N-(2-D-ブロモ)プロピオニル-L-グルタミンのアミノ化反応をHoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 105, 58(1919)に記載の方法に従って行った。すなわち、N-(2-D-ブロモ)プロピオニル-L-グルタミン300 mg (1. 07ミリモル、光学純度；97. 9%de)に26. 7%アンモニア水2 mlを加え室温下溶解させた。この溶液を10.0℃の水浴中で1時間反応させた。反応混合物を減圧濃縮しアンモニアを留去した後に、上記と同様の条件によるHPLCによる分析を行い、L-アラニル-L-グルタミン147 mg (収率；63. 4%、光学純度；96. 8%de)の生成を確認した。

【0037】

【発明の効果】本発明により、工業上、安価かつ高純度なアラニルグルタミンの製造法およびその中間体N-(2-置換)-プロピオニルグルタミンの製造法並びに該方法により製造される新規N-(2-置換)-プロピオニルグルタミン誘導体が提供される。

フロントページの続き

(72) 発明者 新村 浩行

大阪府堺市北清水町1-2-13

(72) 発明者 小野 康幸

神奈川県伊勢原市高森1540白金山団地2-205

(72) 発明者 大澤 豊

千葉県市川市中山3-14-26

(72) 発明者 水滝 彰一

大阪府河内長野市美加ノ台1-37-1-401

(72) 発明者 河西 政次

神奈川県藤沢市鵠沼松ヶ岡3-12-15

(72) 発明者 富岡 新二

和歌山県橋本市隅田町下兵庫690-4